

石油暨石化產業科技學術合作

八十八年度期中報告

電活性高分子薄膜生化感測器 之開發與應用

計畫編號：88-CPC-E-032-008

執行期間：87年8月1日至88年7月31日

委託單位：中國石油股份有限公司

計畫主持人：林孟山

執行單位：淡江大學

中華民國 88 年 5 月 31 日

目 錄

一、計畫目標-----	1
二、研究方法及步驟-----	7
(1)長效型酵素高分子薄膜-----	7
(2)氧化還原型高分子薄膜之開發-----	8
(3)電聚合高分子薄膜之開發-----	11
(4)持續開發一催化型薄膜-----	13
三、目前進度達成情形-----	15
四、實驗結果-----	16
五、結論與建議-----	20
六、圖表-----	21

一、計畫目標

由於社會變遷以及生活水準的快速提昇，一般社會大眾逐漸有監測環境污染以及監控疾病因子的觀念，故感測器(sensor)也逐漸能被大眾接受、使用。一般而言，感測器的基本架構為一結合了化學檢測、生物科技、電子技術、軟體和測量學等所發展之可攜式分析儀器，將會是個可提供快速、瞬時和立即檢測之輕便小巧的分析工具，可廣泛地運用在環保及生醫檢驗等用途上，預期會有相當不錯的市場價值，而感測器被各界列為二十一世紀的十大重點科技之一，相信不久的將來，我國也會在此方面有重大發展與突破，而行政院亦擬將感測器的發展列為未來國家發展的重點計畫之一，被各界看好有相當不錯的發展前景。

而在開發感測器過程中，利用各種不同高分子薄膜修飾在感測器的表面，就成為改善感測器特性中十分重要的手段或方法，配合著電子儀器，感測器就和所有分析程序的要求相同。一般而言感測器必須具有下面所述三項特性：(1)特殊之專一性(Specificity)，(2)高靈敏度(High Sensitivity)，(3)低干擾物影響(Low Interference)，而高分子薄膜則能充分利用其設計上的多重可變性，提高了對分析物種的專一性、靈敏度，並能藉此降低一般偵測環境中的干擾。

為了達到上述要求，在設計感測器界面時必須建立一套有效率的訊號傳遞機制(Signal transduction mechanism)，主要包含兩大部份，(1)傳感器(Transducer)，(2)辨識機制(Recognition mechanism)，以滿足測量訊號時之所需，並發展切合實用的感測器。

感測器之傳感器的種類繁多，而電化學電極則常被選擇作為感測器之傳感器之一，其在感測器的發展上所面臨較大的挑戰即在於較高的過電壓時常面臨的選擇性困擾，為了提高系統之專一性並降低操作電壓，電極通常都必須加以修飾，我們稱之為修飾電極(modified electrode)。所謂修飾電極是指將修飾劑(modifier)藉由機械、物理或化學方式固定在電極表面上，使感測器表面能與特定之被分析物反應，同時亦可藉此改變電子或質點傳遞特性，而使測量具有高度的穩定性與專一性。另一方面來說，藉由修飾電極的修飾劑催化可改變原本的反應路徑，降低反應的活化能達到催化作用，因此，可降低原本的操作電壓至適當的偵測範圍，使得測量上有較少的干擾物質影響，提高分析的準確度。

而特別就生化感測器(Biosensor)而言，製作上便是將生化元件固定於電極的表面，我們稱之為生化修飾電極(Bio-electrode)，此一固定技術乃生化感測器成敗的重要關鍵之一，這是由於生化元件一般都擁有專一性的辨識元中心，如果無法固定於電極表面，電極就

無法對偵測物種作專一性辨識，將產生相當程度上的干擾；甚至無法偵測到分析物的訊號。另外，辨識元與電極間傳導介面的結合度亦是一重要的關鍵，結合程度越好傳導越容易辨識元也比較不容易流失，可操作的生命其也相對延長，所以辨識元與傳感器需能緊密的結合，方能增加偵測靈敏度(Sensitivity)並縮短反應測定的時間(Response Time)與延長生命期(Life time)。

綜合上述，我們可以知道，感測器界面必須包含辨識元的固定機制、訊號傳遞機制，以及排除干擾物質的機制，將這些不同物理和化學特性的物質，在妥善的空間列陣安排下，欲設計成一個具有一項或多項功能的高分子陣列(multi-functional polymer matrix)，必須經過仔細的調整與設計，以期將所有的考量包含於感測器之設計當中，以達成感測器設計之基本要求：速度快、準確性高、成本低、操作方便等特性。

而有鑑於過去數十年來高分子工業的蓬勃發展，各式的高分子亦漸漸的被應用於各行各業上，但卻鮮少被應用於感測器之發展，即使目前標榜應用高分子材料的感測器，也多採用構型簡單的高分子，沒經過特殊設計；因此在感測器的製作應用上，高分子的功能並未發揮到極致。而最近幾年來，許多人對於高分子材料應用於催化系統的開發感到十分有興趣，其應用範圍也相當廣泛，醫藥合成、

生物技術、分析檢測、甚至於各項工業等，只要能夠發展出適當的催化系統，降低整個反應的活化能，必能節省相當多的人力、物力、財力，足以證明利用此一高分子系統的潛力；特別是藉由各種合成方式，能夠隨心所欲的設計各類聚合物。

經由過去許多研究者的投入，各式各樣的高分子技術逐漸的發展出來，其中最主要的包括有(1)Conducting Polymer (2)Redox Polymer (3)Chelating Polymer (4) Charge exclusion Polymer (5) Size exclusion Polymer(6)Recognition containing polymer等等，本研究將著重於第二項的高分子研發。

在第一年的研究當中，我們已將酵素與水性PU高分子，藉由交聯劑UX-600的作用，以共價鍵結的方式固定於石墨電極表面，製備出含有酵素的PU改良型高分子薄膜，並同時得到酵素操作生命期限延長之效果。而發展過程中我們發現，由於PU高分子薄膜的阻隔，使得受質與酵素反應所生成之 H_2O_2 ，還必須經由擴散的過程才能到達電極表面，為石墨工作電極偵測得到訊號，因此系統的反應時間相當的長；並由於系統未修飾任何的電子傳遞媒介，使得系統的操作電位太高而無法避免偵測環境中易氧化物質的干擾，如ascorbic acid, uric acid, acetaminophen等。

因此，擬採用Quinone系列的化合物，來完成電化學生化感測器中電子傳遞之任務，因為Quinone化合物本身具有較為合適之操作電位，符合生化感測器發展之所需，而能避開操作環境中易氧化物質之干擾。此外，將Quinone修飾於PU高分子薄膜上，除了可當作酵素固定的材質之外，Quinone本身又可直接傳遞酵素反應過程中的電子，達成生化感測器設計之需求，辨識元與電子傳遞員必須緊密的接觸，方能擁有最佳之電流密度及最快的反應時間；因此，我們希望此一系列修飾之高分子薄膜，能夠符合我們發展生化感測器之所需。另外，在PU的材質選擇上，我們也對水性PU與油性PU分別進行探討，希望不同材質的PU會對Quinone有不同結合方式，使分析特性隨之改變。

另一方面，由於PU膜本身無法作為電子傳遞媒介，並會阻礙偵測物擴散至電極表面之質傳速度，因此，本計畫的另外一個研究方向則希望能發展一具催化性之高分子薄膜。利用對金屬具特殊結合能力之高分子，讓其與金屬結合，以發展成催化性薄膜，例如以thiophene為基礎的高分子薄膜，將其修飾於電極上，再讓它與溶液中的各類金屬結合，預期將會使固定於電極上的高分子薄膜因含有金屬的緣故，而產生具催化特性的薄膜，當此具催化特性的薄膜修

飾於電極表面上時，可對特定分析物進行偵測，並希望進一步發展成高分子薄膜生化感測器。

根據上年度的初步研究結果顯示，過高的操作電壓使得高分子修飾生化感測器無法避免分析樣品中易氧化物質如 ascorbic acid、uric acid 等等干擾，因此利用本實驗室所發展出之催化劑加以修飾，成功地降低偵測之電壓，並成功地避免干擾物之干擾，但由於薄膜之阻隔，使得酵素反應所生成之 H_2O_2 仍舊必須擴散進入催化劑修飾層，因此造成生化感測器的反應時間較長，並不完全符合發展之所需，因此本計畫將延續上年度之研究，並利用電活性高分子修飾生化感測器來解決所面臨之問題。

此計畫之目的在於利用各式高分子薄膜來發展各式各樣的感測器，並研究出一套可行之策略，以提供未來研製新型感測器或生化感測器之模型，並將以 glucose 的測定為模形來研究。

本計畫不但可培訓學生具備有電化學及高分子化學方面之專精知識，並可從事電化學之研究如腐蝕或電池之工作，且可培訓使其能有規化能力之生醫、環保的研究人員，將來可投入各式 sensor 的發展工作，以成為發展生醫和環保方面偵測技術之尖兵，並在整個研究的過程當中，瞭解國內在此方面之實際需要及所面臨的困難，以期能使研究與實際相互配合。國內此方面之努力，已可由生技中心、

化工所等單位的積極投入，可預見未來的業界將需儲備這方面的人員配合。如前述，生化感測器之發展是需集眾人之力，一點一滴累積而成的。因此，目前訓練的人員，相信未來可在電化學應用、環境中有毒物質的檢測和感測器發展上有顯著的影響。

二、研究方法及步驟

(1)長效型酵素高分子薄膜

此部分乃延續第一年度計畫，利用本系陳幹男教授所發展之水溶性之 PU 高分子化合物來固定生化感測器中之辨識元，此方法可有效保持酵素於電極面上之四級結構，可延長生化感測器的操作期限，有助於開發出符合商業化要求之生化感測器。由於此酵素薄膜具有極佳之穩定性，因此本年度仍對其保存方式及生命期特性作持續之評估。

進行步驟如下：

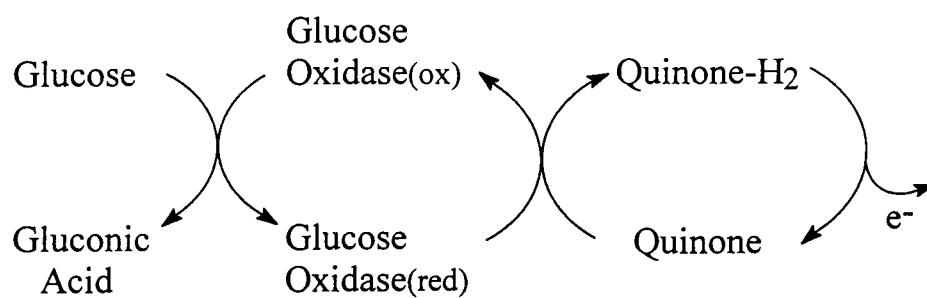
1. 電極修飾：將 5% PU 與 2 單位 GOx 先行混合均勻，再加入等當量之交聯劑反應 30 秒後，以微量吸取器吸取 25 μ l 之上述溶液，並利用旋轉成膜方式將其固定修飾於石墨電極上。並置於空氣中乾燥。
2. 生命期評估：將電極由 4°C 恆溫箱中取出，於室溫下回溫 5 分鐘，置入 25°C 反應槽中偵測葡萄糖。實驗後將酵素-PU 修飾電極依保存方式置於溶液或乾燥條件下 4°C 保存

(2) 氧化還原型高分子薄膜之開發

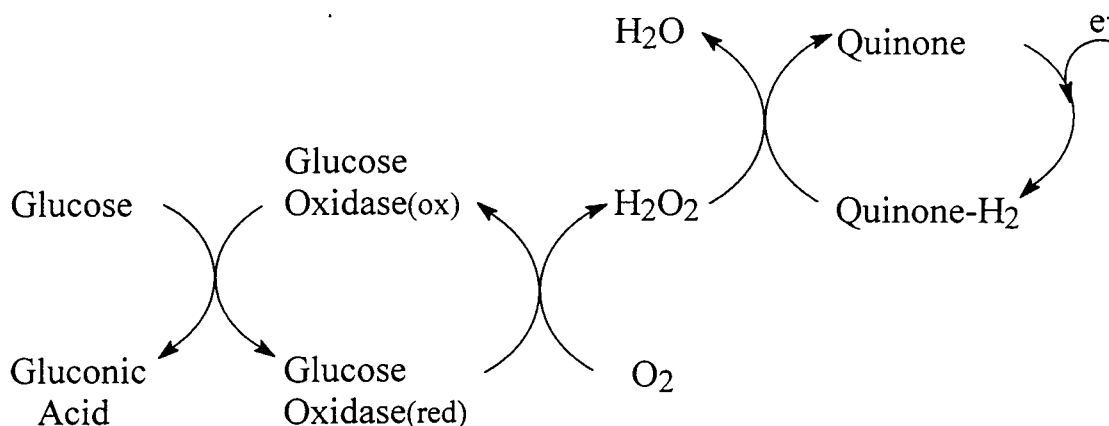
本年度首要乃發展具有氧化還原中心之 PU 高分子薄膜，利用此一具電子傳遞特性之高分子薄膜為基礎，改善系統操作電位太高($E > +0.90V$)，使得應用於樣品偵測時干擾物嚴重影響之問題。本年度將著手改進 PU 的基本性質，配合以 quinone 化合物為基礎的單體，反應生成具有氧化還原中心之 PU 高分子薄膜。

利用此一具有氧化還原中心之修飾 PU 高分子薄膜為基礎所製備之生化電極，我們預期它將有下列的反應機制：我們可以選擇以氧化或還原機制來進行葡萄糖之偵測工作：

Oxidized Model Mechanism:



Reductive Model Mechanism:



以下將針對水性 PU 及非水溶性 PU 之改質作一說明。

1. 氧化還原型水性 PU 高分子薄膜

由於水性 PU 藉由其上之 carboxylic group 與所使用之 UX-600 交聯試劑能產生相當好的交聯反應，因此可利用具有 carboxylic group 之 quinone 衍生物與水性 PU 高分子同時與交聯試劑 UX-600 充分反應便可將 quinone 衍生物一起鍵結於水性 PU 高分子溶液中。因此將混合反應之溶液以旋轉成膜方式固定電於電極表面，便可將 quinone 衍生物修飾於 PU 高分子薄膜上，製成具氧化還原特性之 PU 高分子薄膜。

進行步驟如下：

1. 將 5% 水性 PU 與 quinone 的衍生物及 UX-600 進行交聯反應，形成具有 quinone type 氧化還原中心的 PU 高分子溶液。
2. 以 micropette 吸取此一溶液，並以 spin coating 的方式置於電極表

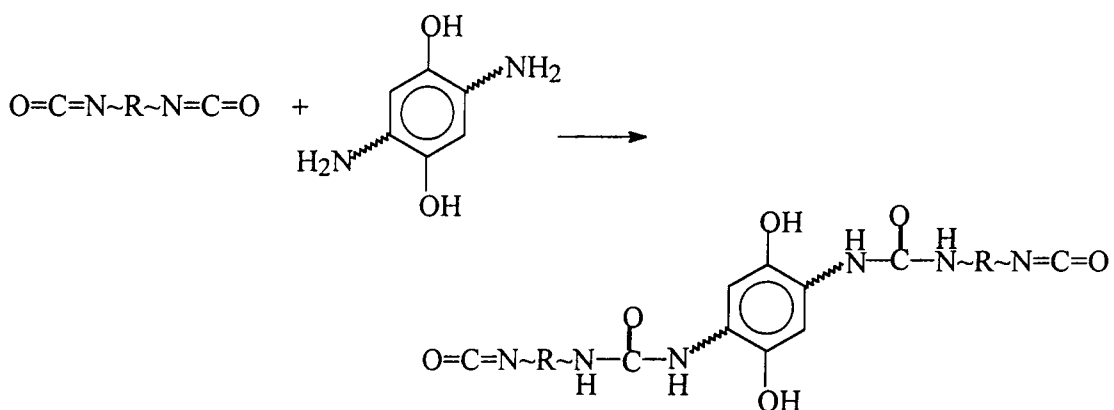
面，使其在旋轉下於電極表面形成高分子薄膜，並靜置使其乾燥。

3. 將此高分子薄膜修飾電極以循環伏安法及微差脈衝伏安法，以檢視此一薄膜的電化學特性。

4. 將此高分子薄膜修飾電極用於偵測各種不同之被分析物，依據被分析物之不同，可以選擇合適的氧化還原酵素加以固定，製備成不同種類的生化感測器。例如，分析葡萄糖則可選擇以 glucose oxidase 為偵測之模型(反應之機制如上)。其他可供選擇的氧化還原型酵素，如 Cholesterol Oxidase、Choline Oxidase、Uricase、Putrescine Oxidase 等等，具有相當大的發展空間。

2. 氧化還原型非水性 PU 高分子薄膜

以非水溶性 PU 反應可藉由其上之一 $\text{N}=\text{C}=\text{O}$ 官能基與具有 amine 官能基之 quinon 衍生物反應，而形成具氧化還原特性之 PU 高分子，所進行的原理如下：

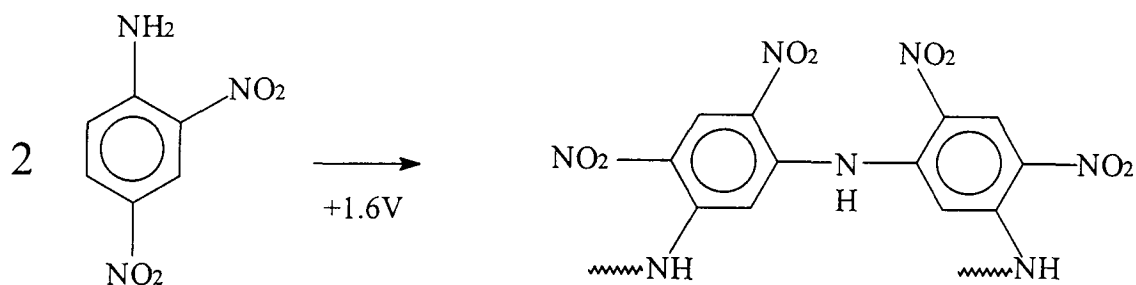


進行步驟如下：

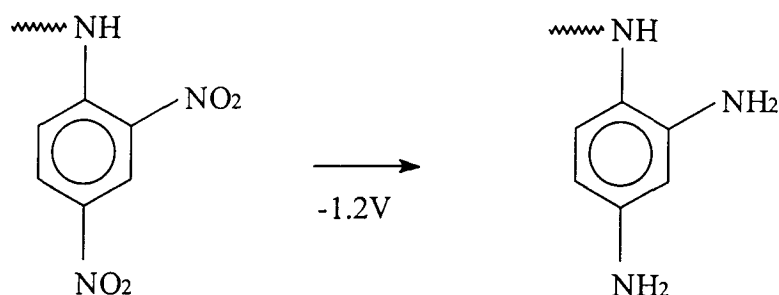
1. 先將非水溶性 PU 與 quinone 的衍生物以等當量進行反應 20 分鐘，使其形成具有氧化還原中心的 PU 高分子溶液。
2. 以 micropette 吸取此一溶液，並以 spin coating 的方式置於電極表面，使其在旋轉下於電極表面形成高分子薄膜，並靜置使其乾燥。
3. 將此高分子薄膜修飾電極以循環伏安法及微差脈衝伏安法，以檢視此一薄膜的電化學特性。
4. 將此高分子薄膜修飾電極用於偵測各種不同之被分析物。

(3)電聚合高分子薄膜之開發

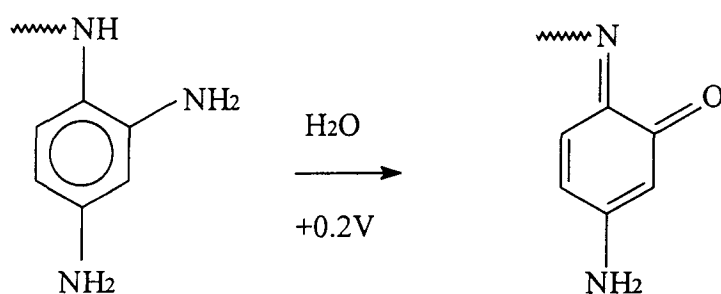
除利用 PU 改質以發展氧化還原型高分子薄膜外，本年度亦嘗試利用電聚合生成(electropolymerization)方式，探討另一系列具 quinone based 之高分子薄膜之可行性以作為感測器之用。實驗採用含有硝基的酚類或胺類化合物為發展基礎，先以電聚合方式在電極面上形成薄膜，再利用電位控制改變高分子薄膜上之官能基團，使其形成具有 quinone based 之高分子，達成電子傳遞之特性以應用於生化感測器上。電聚合形成薄膜之簡易示意圖如下表示：



而施加還原電位於電極面之薄膜上，將可使其上之硝基官能團轉變為胺基，反應如下所示：



由於薄膜上反應生成之胺基衍生聚合物，於含 O_2 之水溶液中，施加一氧化電位將會於電極面上反應生成具 quinone 之官能團，而完成 quinone 高分子薄膜之修飾。官能團之氧化反應如下：



進行步驟如下：

1. 配製此類化合物溶於 0.05M, pH8 磷酸鹽緩衝溶液，先施加氧化電位+1.5V(vs. Ag/AgCl)，將酚類或胺類化合物做電聚合處理，形成一薄膜在電極表面上。
2. 將電極放置於 0.05M, pH3 醋酸緩衝溶液下，再施加一還原電位-1.2V(vs. Ag/AgCl)，將形成於電極面之電聚合薄膜上的硝基還原成胺基。
3. 將電極置於 0.05M, pH7 磷酸鹽緩衝溶液中，以循環伏安法(CV)及微差脈衝伏安法(DPV)觀察此一經處理後的電聚合薄膜，並與先前空白(bare)電極作一比較，以檢視此一薄膜的電化學特性。
4. 最後以安培法檢視此一電聚合薄膜，觀察加入 NADH 溶液時所產生的訊號，確定其可行性。

(4)持續開發一催化型薄膜

從事催化型薄膜的開發，利用催化型薄膜來發展之感測器具有 high current density 及 short response time 等優點。並且不同的催化劑組成具有不同的催化性質及對物種的選擇性。此外，催化的應用亦會幫助感測器在偵測時，避開環境與生理樣品中之干擾物之干擾。因此，希望藉此開發出不同型態之感測器和生化感測器。

進行步驟如下：

首先將 M^{n+} ($M = \text{Ru}$ 、 Fe 、 Ni 等等) 離子加入 thiophen pyrrole furan 溶液中反應一小時，使其利用配位的方式形成錯合物。再利用定位法或循環伏安法將 thiophen pyrrole furan 的化合物氧化形成 polymer 於電極表面，形成具有催化性質的高分子膜。此外，我們亦可於此薄膜內加入酵素，再藉由此一催化薄膜的催化作用，用以發展成各式各樣的生化感測器。我們可藉由 SEM 或 SECM 的技術上，觀察所形成的薄膜是否為平面型，此一面我們亦可藉由於 Thiophen，Pyrrole，Furan 上加上一些官能機，造成 steric effect，形成 monolayer 的 polymer 於電極表面。

我們希望利用此高分子膜的特殊作用來提高偵測的靈敏度，首先將此高分子聚合產生在電極的表面，並利用一具有電活性並且可亦與高分子上的 carboxyl group 具有微弱配位的 Marker，例如 Europium。再加入 uranyl ion 到此系統中，預期藉由 uranyl ion 與高分子上的 carboxyl group 上的 Eu 產生競爭效應(competition reaction) 作用將原本固定在 poly[2,2-bis(acrylamido)acetic acid] 上的 marker 取代出來，使電位抑或電流發生規則性的改變。經由此電位或電流改變的規律，期可發展出一新的具有選擇性和高靈敏度的分析法。

三、目前進度達成情形

(1)長效型酵素高分子薄膜

延續第一年計畫之結果，持續針對以 PU 共價鍵結葡萄糖氧化酶酵素之高分子薄膜，製成之葡萄糖生化感測電極，做保存方式及電極生命期之探討。目前已完成超過第 300 天的測量，仍具有相當好的穩定性。

(2)氧化還原型高分子薄膜之開發

1.水性 PU 高分子薄膜

本年度計畫首先針對含 quinone based 之水性 PU 高分子薄膜之合成氧化還原型高分子薄膜之可行性做探討，並針對合成後薄膜之電化學性質及應用性作評估。目前分別完成以 3,4-dihydroxybenzoic acid、L-Dopa 為氧化還原中心之 quinone-PU 合成，並已應用於感測電極之製造。且完成以電化學方式分析此類型高分子電子傳遞之特性。並針對分析物 NADH 作進一步評估，。

實驗結果發現利用 3,4-dihydroxybenzoic acid 合成之 quinone-PU 高分子，有較好之分析特性，可有效降低 NADH 氧化之偵測電位至 0.2V 以下，而應用安培法量測時可得到明顯測得 NADH 的氧化電流訊號；將來可進一步應用於以去氫酶(dehydrogenase)為辨識元之生化

感測電極製造上。

2.非水溶性 PU 高分子薄膜

以及非水溶性 quinone-PU 之高分子合成。並初步分析其電子傳遞之特性，此部分計畫仍持續進行中。

(3)電聚合高分子薄膜

另外，在以電聚合生成方式發展另一系列具 quinone based 之高分子薄膜方面，初步選用了 2,4-dinitroaniline，已經初步探討此系列化合物在於玻璃碳電極表面行電聚合反應之可行性；並針對及其電聚合後基本電化學性質完成初步探討。

四、實驗結果

(1)長效型酵素高分子薄膜

此部分實驗主要探討以 PU 作為修飾葡萄糖氧化酶之生化感測電極，於不同保存條件下之生命期長短。保存方法一是將感測電極浸入 0.05M pH8 之磷酸鹽緩衝溶液中於 4°C 下作保存，所得偵測葡萄糖之反應訊號與操作期限之關係如圖(一)所示，在第 302 天偵測時仍保有 101.4%之訊號。而圖(二)則顯示在 4°C 乾燥環境保存下，偵測葡萄糖所得之反應訊號與操作期限之關係，在第 375 天偵測時仍有 117.3%之訊號。以目前現有之分析數據評估在溶液中及乾燥條件

下，其生命期分別可達 1.5 年及 7 年。

(2) 氧化還原型高分子薄膜之開發

此部分實驗主要探討以水性 PU 及非水溶性 PU 合成氧化還原型高分子薄膜之可行性，並針對合成後薄膜之電化學性質及應用性作評估。

1. 氧化還原型水性 PU 高分子薄膜

實驗分別以 3,4-dihydroxybenzoic acid 及 L-dopa 與水性 PU 及 UX-600 交聯劑反應，反應後生成之高分子薄膜修飾至電極後，以電化學循環伏特安培法及微差脈衝伏安法檢測薄膜，以評估合成之高分子薄膜之電化學性質。其中以 3,4-dihydroxybenzoic acid 與 PU 合成之薄膜所得微差脈衝伏安圖，如圖(三)所示。可明顯發現於 -0.11V (vs. Ag/AgCl) 即可得到一氧化峰，證實可有效將 3,4-dihydroxybenzoic acid 以此方式合成於電極面上。

實驗結果發現利用 3,4-dihydroxybenzoic acid 合成之 quinone-PU 高分子，相較於以 L-dopa 合成之 quinone-PU 有較好之電子傳遞特性及分析特性。針對分析物 NADH 所做的量測發現，此感測薄膜可有效降低 NADH 氧化之偵測電位至 -0.1V 以下；而應用安培法量測時可得到明顯測得 NADH 的氧化電流訊號，如圖(四)所示。而圖(五)則顯示分析 NADH 時所得訊號對濃度之校正曲線。

2. 氧化還原型非水溶性 PU 高分子薄膜

為尋找適合之 quinone 衍生物以循環伏安法針對 1,4-Benzoquinone, 2-Chloro-1,4-Benzoquinone, 2,6-Dimethyl-1,4-Benzoquinone, 2-Phenyl-1,4-Benzoquinone, 2-Methyl-1,4-Benzoquinone, Tetramethyl-1,4-Benzoquinone, 2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-Benzoquinone, Tetrachloro-1,4-Benzoquinone 等化合物作電化學特性之探討結果如表(一)所示。

此部分實驗分別以 Duroquinone、2,6-dimethylquinone、2,3,5,6-tetrachloroquinone、2,4-dinitroaniline、1,4-benzoquinone、等化合物與非水溶性 PU 反應形成薄膜。並選用 2-aminoanthroquinone 與非水溶性 PU 反應形成共價鍵結，反應後生成之高分子薄膜經修飾於電極後，以電化學循環伏特安培法檢測薄膜之電化學性質。實驗發現並無明顯的 quinone 特性峰生成。

實驗結果顯示以此方式合成之薄膜修飾於電極後並無法得到預期之電子傳遞效果，可能的原因是由於非水溶性 PU 不親水的特性，而不利於電極表面與 PU 高分子內氧化還原物種間電子的傳遞，而導致氧化還原反應無法順利進行所致。此部分實驗仍持續探討和改進中。

(3)電聚合生成高分子薄膜

本部分實驗以含有硝基的酚類或胺類化合物為發展之基礎，先以電聚合方式在電極面上形成薄膜，再利用電位控制改變高分子薄膜上之官能基團，使其形成具有 quinone based 之高分子感測薄膜，改善修飾電極上電子傳遞之特性，降低偵測時之外加電位減低干擾，以期適用於生化感測器對分析物之測量上。

實驗將以此方式修飾完成之感測電極，以循環伏安法及微差脈衝伏安法觀察此一經處理後的電聚合薄膜修飾電極，並與先前空白 (bare) 電極作一比較，以檢視此一薄膜的電化學特性，其微差脈衝伏安圖如圖(六)所示。由圖上發現於+0.1V 處可得到一明顯之氧化峰，當加入 1mM NADH 溶液時，可觀察到於此特性峰位上氧化電流有明顯的增強。若以安培法檢視此一電聚合薄膜，觀察加入 NADH 分析物時所產生的氧化訊號。當所加入 NADH 溶液之濃度增加時，反應之氧化電流隨之增加，於 steady-state 狀態下訊號成階梯狀上升，如圖(六)內之插圖所示。因此，由上述探討中可明顯發現，此電聚合薄膜可達到有效降低偵測 NADH 氧化電位之目的，此一技術可應用於以去氫酶(dehydrogenase)為辨識元之生化感測電極製造上。

五、結論與建議

在長效型酵素高分子薄膜研製上，於 4°C 乾燥環境保存下相較於以緩衝溶液保存下有較穩定之偵測訊號。而以目前現有之分析數據評估在其生命期可達七年。

在 quinone-PU 氧化還原型高分子薄膜之開發上，我們初步得到以水溶性 PU 所製成的氧化還原型高分子薄膜能成功的以電化學方法觀察到的電子傳遞特性，特別是以 3,4-dihydroxybenzoic acid 合成之 quinone-PU 高分子薄膜，針對分析物 NADH 的量測可有效降低其偵測電位至 -0.1V，並以安培法量測時可得到較明顯的偵測訊號。而以非水溶性 PU 發展氧化還原高分子薄膜部分，實驗發現以此方式合成之薄膜修飾於電極後並無法得到預期之電子傳遞效果，此部分實驗仍持續探討和改進中。

另外，以電聚合方式於電極面上修飾具氧化還原特性之薄膜中，以 2,4-dinitroaniline 製備完成之修飾電極，具有改善修飾電極上電子傳遞之特性，此電聚合薄膜可明顯降低偵測 NADH 時之外加電位至 +0.2V，大幅減低偵測之干擾，此一技術可應用於以去氫酶 (dehydrogenase) 為辨識元之生化感測電極製造上。

本年度計畫已成功研發出具氧化還原中心之 PU 高分子薄膜修飾電極，具有良好之電子傳遞特性。尤其針對 NADH 之偵測更有明

顯降低偵測電位並減低干擾之功能。

未來將針對氧化還原 PU 高分子及電聚合高分子這兩類型修飾電極之穩定性及固定辨識元之組成和方式作更進一步探討。此外並針對偵測分析物時之最佳化條件作選擇。並持續嘗試改進非水溶性 PU 改質之可行性。

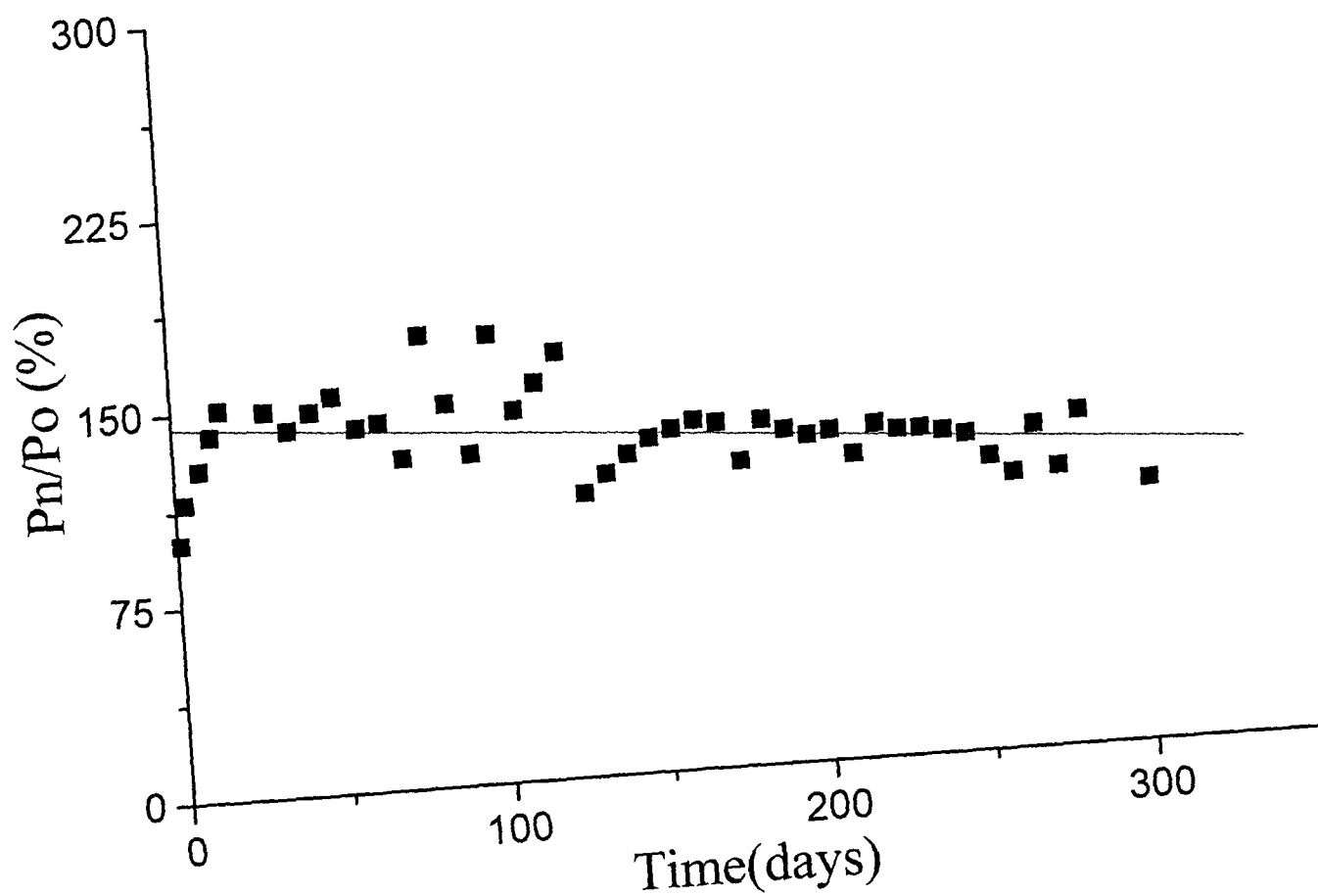
六、圖表

表(一) 不同 Quinone type 化合物之電化學性質。操作條件：溶劑為

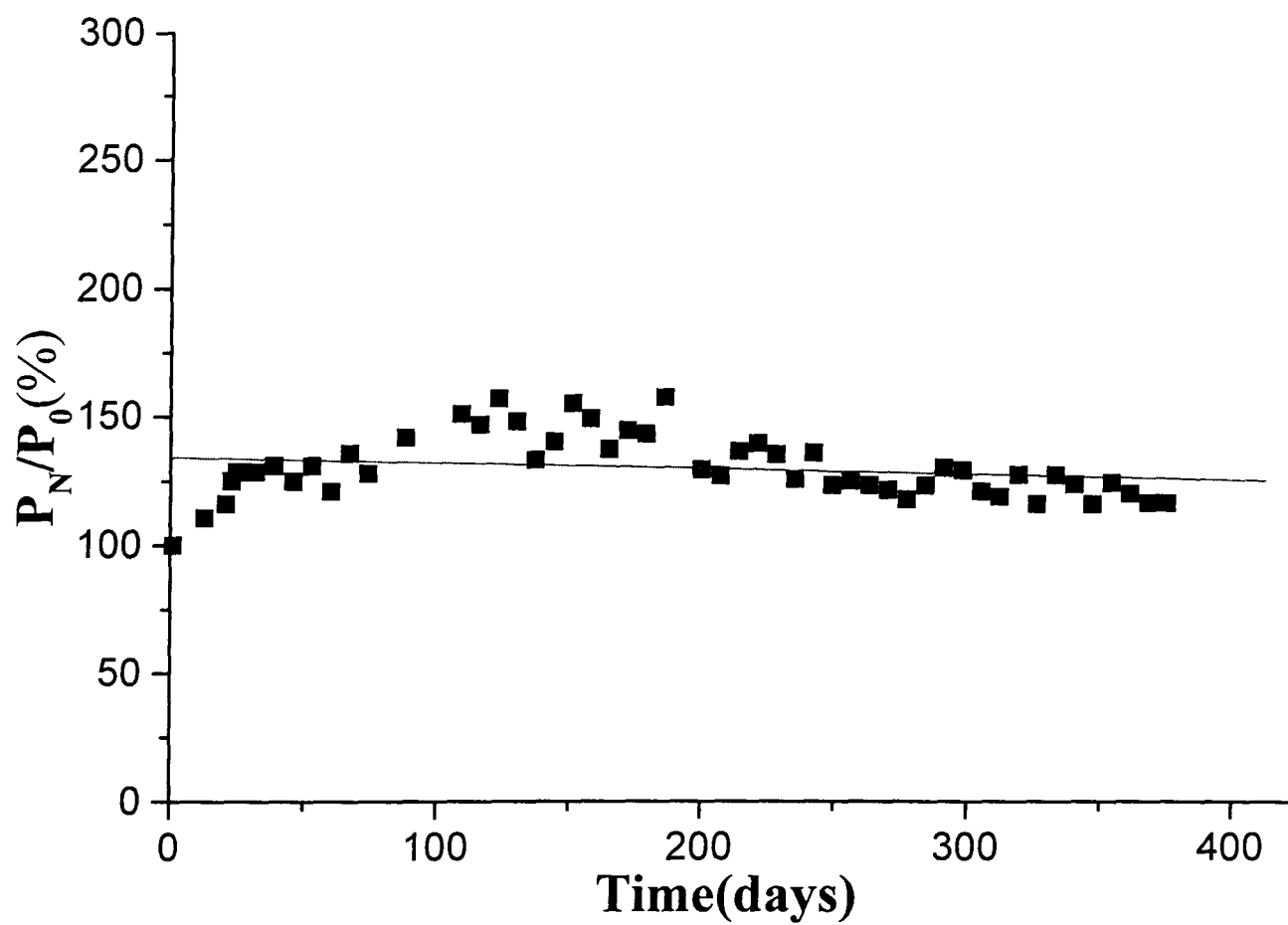
Acetonitrile, 0.1M TEAP, 使用電化學循環伏安法及理論計

算方法探討。

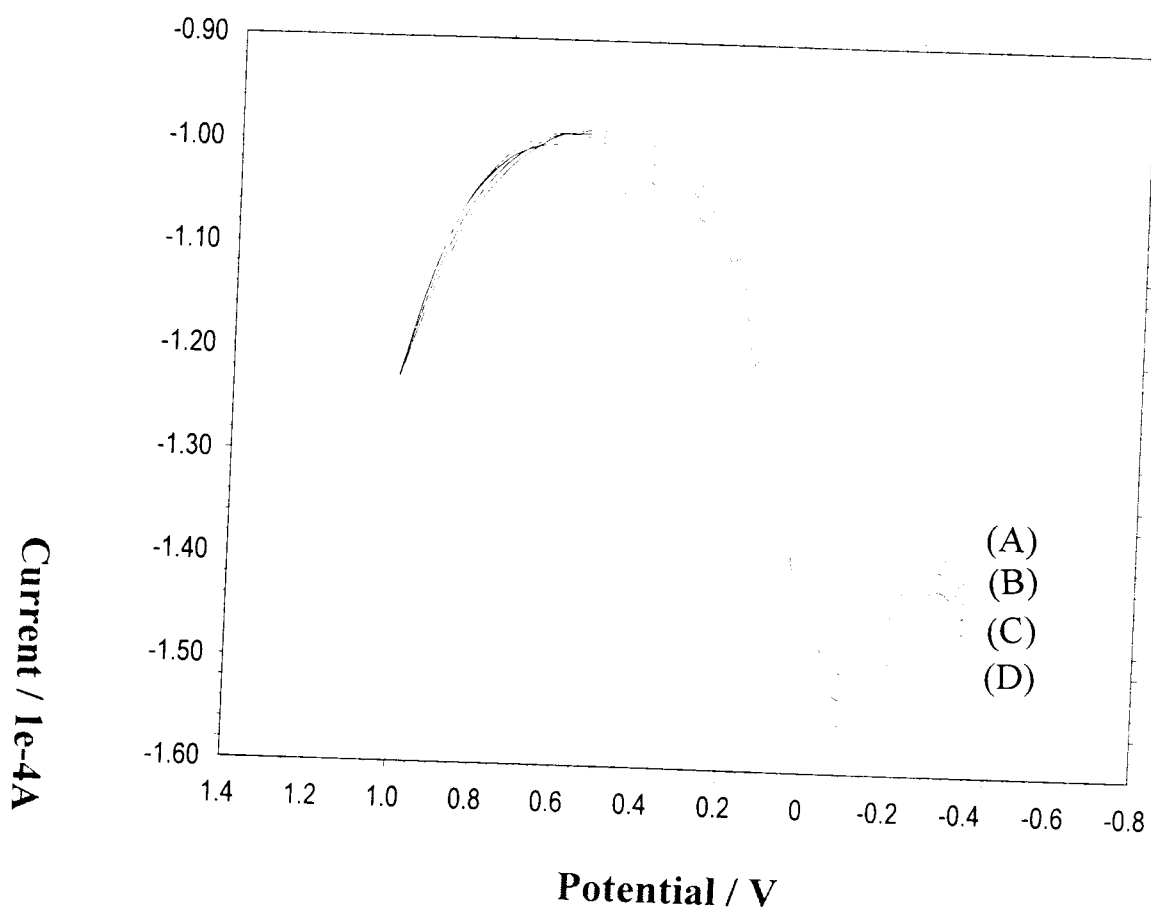
項目 化合物	Ea'	Ec'	E(formol potential)	LUMO(eV)
1,4-Benzoquinone	-0.331V	-0.427V	-0.379V	-1.735007
2-Chloro-1,4-Benzoquinone	-0.180V	-0.270V	-0.225V	-1.944045
2,6-Dimethyl-1,4-Benzoquinone	-0.399V	-0.314V	-0.457V	-1.670358
2-Phenyl-1,4-Benzoquinone	-0.346V	-0.435V	-0.391V	-1.738062
2-Methyl-1,4-Benzoquinone	-0.491V	-0.583V	-0.537V	-1.609259
Tetramethyl-1,4-Benzoquinone	-0.688V	-0.785V	-0.737V	-1.472128
2,3-Dichloro-5,6-dicyano-1,4-Benzoquinone	0.636V	0.557V	0.597V	-2.973753
Tetrachloro-1,4-Benzoquinone	0.147V	0.059V	0.103V	-2.426593



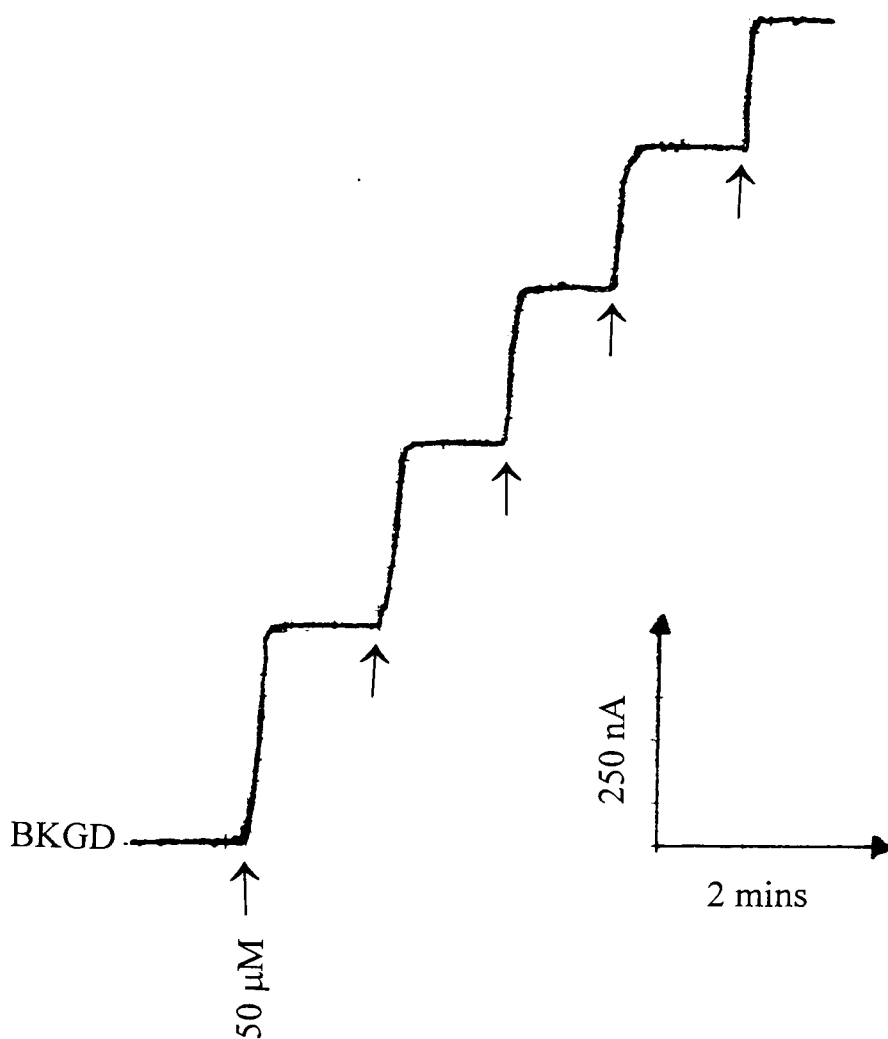
圖(一) PU 固定葡萄糖酵素修飾電極之酵素生命期探究圖。此酵素電極保存於 0.05M pH8 磷酸緩衝溶液，溫度為 4℃。圖中座標軸 Pn/Po 為相對酵素電極第一次偵測葡萄糖訊號比較值，以百分比表示。



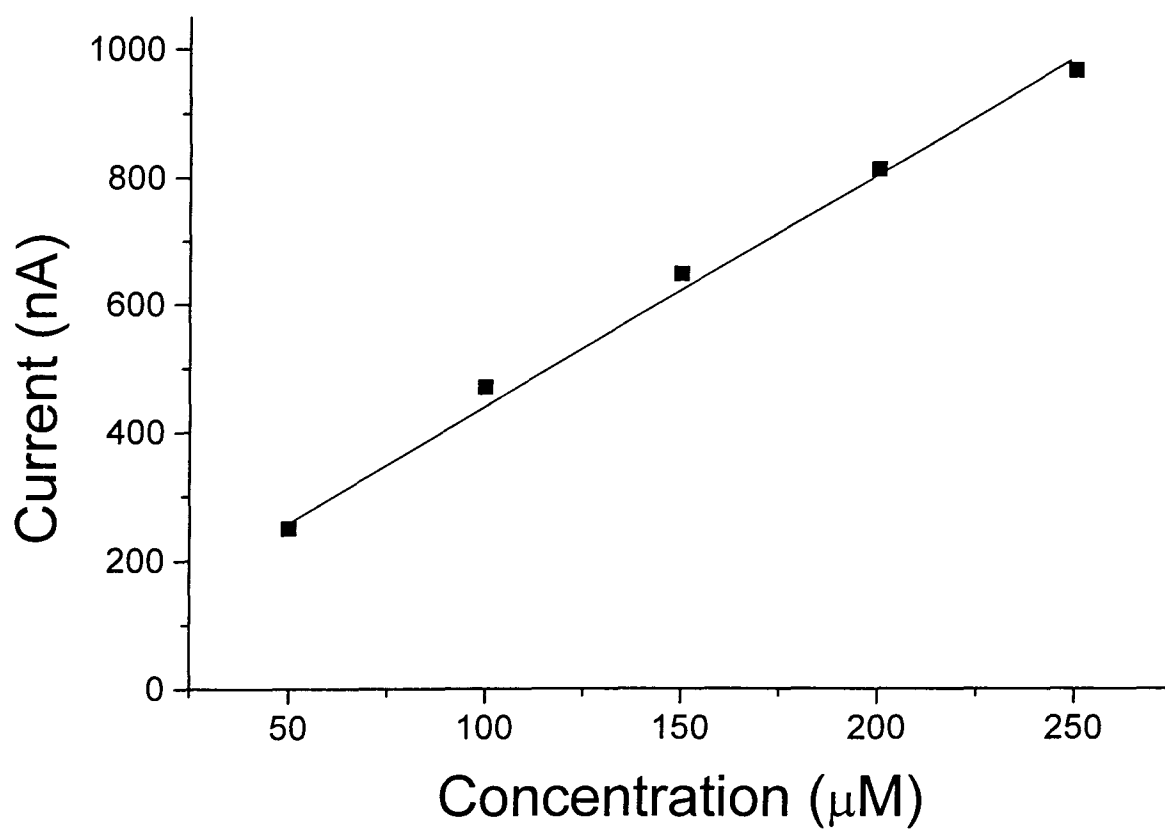
圖(二) PU 固定葡萄糖酵素修飾電極之酵素生命期探究圖。此酵素電極於大氣下自然乾燥保存，其餘操作條件同圖(一)。



圖(三) 修飾電極對 NADH 催化響應之微差脈衝伏安圖：3,4 dihydroxy - benzoic acid 與 PU 交聯並固定之石墨修飾電極於不同 NADH 濃度 (A)0mM (B)0.5mM (C)1mM (D) 1.5mM 下之微差脈衝伏安圖，緩衝溶液：0.05M phosphate buffer pH=7, 參考電極：3M KCl Ag/AgCl。

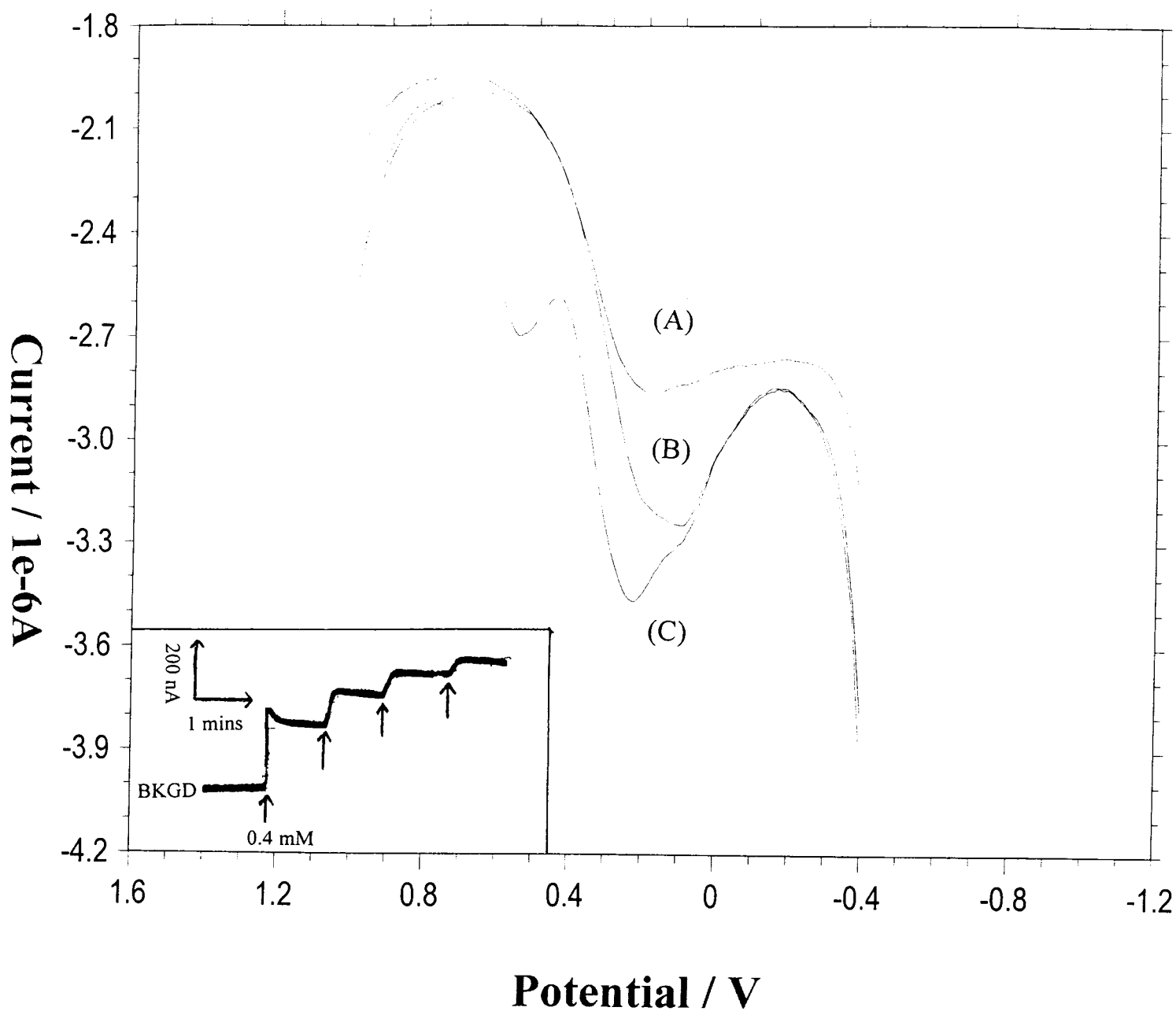


圖(四) NADH 催化電流之響應圖：3,4 dihydroxybenzoic acid 與 PU 交聯並固定之石墨修飾旋轉電極於電化學安培法連續添加 50μM NADH 濃度所得之氧化訊號。偵測電位：+200mV(vs. Ag/AgCl),電極轉速：900rpm，其餘條件同前所述。



圖(五) PU(Quinone type) 修飾旋轉石墨碳電極偵測 NADH 之校正曲線圖，線性範圍：50 μM NADH (相關係數為 0.997)。偵測條件同圖(四)所示。

DPV for Dinitroaniline



圖(六) 微差脈衝伏安法觀察以 2,4-dinitroaniline 發展電聚合法修飾 Quinone 電極對 NADH 的催化響應 (A)Bare 電極，(B)Quinone 修飾電極 (C)1mM NADH)，並以安培法觀察加入 NADH 的催化電流。緩衝溶液：0.05M pH7 phosphate buffer + 0.1M KCl，參考電極：Ag/AgCl。